

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-246721

(43)Date of publication of application : 14.09.1998

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

(21)Application number : 09-065397

(71)Applicant : SHIMADZU CORP

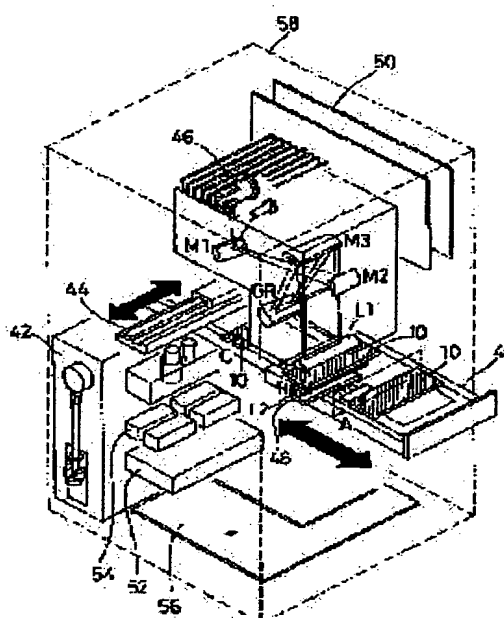
(22)Date of filing : 03.03.1997

(72)Inventor : ARAI AKIHIRO

**(54) MICROCHIP ELECTROPHORETIC APPARATUS****(57)Abstract:**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To automatically process the analysis by compactly summarizing the apparatus.  
**SOLUTION:** When a microchip 10 is installed on a tray 40 and the apparatus is started, it is moved to a liquid sending position C, migration liquid is charged. When the liquid is normally charged, sample is then poured.

Thereafter, the tray 40 is slowly crossed at a detecting point B, and a signal of a detector at that time is fed back to a driving mechanism of the tray 40, and the microchip 10 is positioned at the position B. A voltage sample introducing voltage is applied between a sample reservoir and a sample waste liquid reservoir, then switched to an application of electrophoretic separating voltage between a buffer reservoir and a drain reservoir, and its analysis is started. When the analysis is started, the detector detects a migration pattern of a separating channel, and its detection pattern is data processed by a signal processing board 50.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

30.05.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-246721

(43) 公開日 平成10年(1998) 9月14日

(51) Int.Cl.<sup>5</sup>

G 0 1 N 27/447

識別記号

F I

G 0 1 N 27/26

3 3 1 E

3 3 1 G

審査請求 未請求 請求項の数1 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平9-65397

(22) 出願日 平成9年(1997) 3月3日

(71) 出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(72) 発明者 荒井 昭博

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

株式会社島津製作所三条工場内

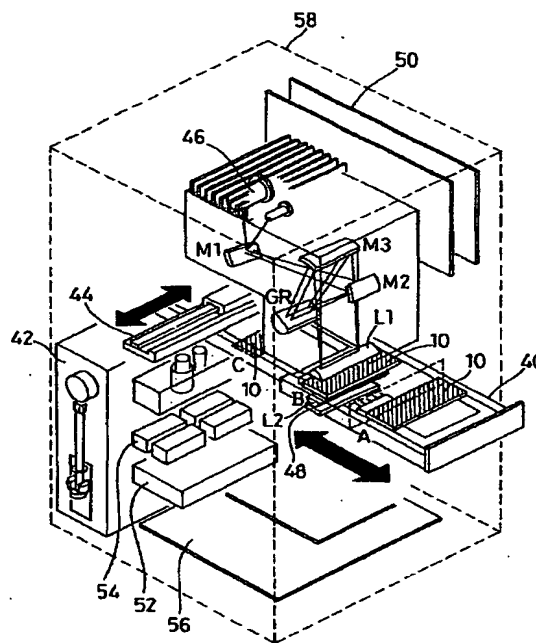
(74) 代理人 弁理士 野口 繁雄

(54) 【発明の名称】 マイクロチップ電気泳動装置

(57) 【要約】

【課題】 コンパクトにまとめ、自動的に処理できるようにする。

【解決手段】 マイクロチップ10をトレイ40に設置し、装置の運転をスタートさせると、送液位置Cに移動して泳動液が充填される。泳動液が正常に充填されると、次ぎに試料が注入される。その後、トレイ40は検出点Bをゆっくり横切り、そのときの検出器の信号がトレイ40の駆動機構にフィードバックされ、マイクロチップ10が検出位置Bに位置決めされる。サンプルリザーバSとサンプル廃液リザーバWの間に電圧試料導入用電圧が印加され、次いでバッファリザーバBとドレインリザーバDの間に電気泳動分離用電圧の印加に切り換えられて分析が開始される。分析が始まると、検出器は分離用流路の泳動パターンを検出していき、その検出パターンは信号処理ボード50でデータ処理される。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 一対の透明板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材の表面に液が流れる溝が形成され、他方の板状部材にはその溝の両端に対応する位置に貫通穴が設けられ、これら板状部材が前記溝を内側にして張り合わされてその溝により互いに交差する分離流路と試料導入流路が形成されているマイクロチップを用い、分離流路と試料導入流路に泳動液を満たし、試料導入流路から分離流路に試料を導入し、分離流路の両端間に泳動電圧を印加して試料を分離流路で電気泳動分離させるマイクロチップ電気泳動装置において、  
電気泳動分離された試料を光学的に検出する検出器と、  
前記マイクロチップをトレイに載せて水平面内で移動させる移動機構と、  
前記貫通孔から泳動液を注入する泳動液注入機構と、  
前記試料導入流路の端に位置する前記貫通孔の試料注入孔から試料を注入する試料注入機構と、  
試料導入流路から分離流路に試料を導入するための試料導入用電圧及び試料の電気泳動分離のための分離用電圧を切り換えて印加する電源装置と、  
前記マイクロチップを泳動液注入機構による泳動液注入位置、前記試料注入機構による試料注入位置、及び前記検出器による検出位置にそれぞれ位置決めするように前記移動機構によるマイクロチップの移動の制御、前記泳動液注入機構及び前記試料注入機構の動作の制御、並びに前記電源装置による電圧印加の制御を自動的に行なう制御部としてのCPUボードとを備え、  
かつ、これらの全てが1つのケース内に一体収納されていることを特徴とするマイクロチップ電気泳動装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、極微量のタンパク質や核酸などを高速、かつ高分解能に分析する装置に関し、更に詳しくは、一対の透明板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材の表面に液が流れる溝が形成され、他方の板状部材にはその溝の両端に対応する位置に貫通穴が設けられ、これら板状部材が前記溝を内側にして張り合わされてその溝により互いに交差する分離流路と試料導入流路が形成されているマイクロチップを用い、分離流路と試料導入流路に泳動液を満たし、試料導入流路から分離流路に試料を導入し、分離流路の両端間に泳動電圧を印加して試料を分離流路で電気泳動分離させるマイクロチップ電気泳動装置に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】極微量のタンパク質や核酸などを分析する場合には、キャピラリー電気泳動装置が一般的に用いられている。キャピラリー電気泳動装置は、内径が100 $\mu$ m以下のガラスキャピラリー内に泳動バッファを充填し、一端側に試料を導入した後、両端間に高電圧を印加して分析対象物をキャピラリー内で展開させるものであ

る。キャピラリー内は容積に対して表面積が大きい、すなわち冷却効率が高いことから、高電圧の印加が可能となり、DNAなどの極微量試料を高速、かつ高分解能にて分析することができる。

【0003】キャピラリーはその外形が数10 $\mu$ m～100 $\mu$ m程度と細く破損しやすいため、ユーザーが行なうべきキャピラリー交換時の取扱いが容易でない問題を有する。そのため、D. J. Harrison et al./ Anal. Chim. Acta 283 (1993) 361-366に示されているように、2枚の基板を接合して形成されたキャピラリー電気泳動チップ（本明細書ではマイクロチップという）が提案されている。そのマイクロチップの例を図1（A）～（D）に示す。マイクロチップは一対の透明ガラス基板1、2からなり、一方の基板2の表面にエッチングにより互いに交差する泳動用キャピラリー溝4、5を形成し、他方の基板1にはその溝4、5の両端に対応する位置に貫通穴3を設けたものである。

【0004】このマイクロチップを使用するときは、両基板1、2を（C）、（D）に示すように重ね、いずれかの貫通孔3から泳動液を溝4、5中に注入する。その後、短い方の溝4の一方の端の貫通孔3（S）に試料を注入しその溝4の両端の貫通孔3、3（S、W）間に電極を差し込んで所定時間だけ高電圧を印加する。これにより、試料は溝4中に分散される。

【0005】次に、長い方の溝5の両端の貫通孔3、3（B、D）に電極を差し込み、泳動電圧を印加する。これにより、両溝4、5の交差部分6に存在する試料が溝5内を電気泳動する。溝5の適当な位置に紫外可視分光光度計、蛍光光度計、電気化学検出器等の検出器を配置しておくことにより、分離成分の検出を行なう。このようなマイクロチップを用いた電気泳動は、高速動作が可能、極微量分析が可能、小型などの特徴を持つことが知られており、その装置化技術が進歩すれば、これまでにないユニークな分析装置となる可能性を秘めている。

【0006】これまでのマイクロチップを用いた技術では、分析前に必要不可欠な泳動液用の貫通孔3から流路4、5への泳動液の充填、及び試料注入用の貫通孔3への試料の注入は全て手操作によって行なっている。泳動液用の貫通穴3は泳動液のリザーバの役割を果たし、試料を注入する貫通穴3は試料容器に相当する。分析前の操作として、泳動液をどれか一つの貫通穴3からシリンジなどで手で送液し、試料は試料導入用の溝4の一端の貫通穴3から別のシリンジで注入している。

【0007】マイクロチップを用いる電気泳動装置の一例を図2に示す。マイクロチップ10を水平面内で移動させる移動機構としてXYステージ12が光学ベンチ14上に置かれ、マイクロチップ10はXYステージ12上に固定されてX方向とY方向の水平面内で手動により移動させられる。泳動路で電気泳動分離された試料を光学的に検出するために、試料をレーザで励起し、その蛍

光によって検出するレーザ蛍光検出器が用いられている。レーザ装置 16 からのレーザ光が照射及び集光部 18 によりマイクロプレート 10 の試料に照射され、試料からの発生した蛍光もその照射及び集光部 18 により集光される。蛍光は照射及び集光部 18 で受光され、光電子増倍管 20 で検出される。22 は照射及び集光部 18 の光軸あわせ用の双眼鏡である。レーザ装置 16、照射及び集光部 18 及び双眼鏡 22 も光学ベンチ 14 上に配置されている。24 はレーザ用電源、26 は光電子増倍管用の高圧電源装置であり、光電子増倍管 20 で検出された光信号は、増幅器 28 で増幅され、A/D 変換器 30 でデジタル信号に変換されて CPU 32 に取り込まれる。

【0008】マイクロチップ 10 に注入された試料を分離用流路に導入するための試料導入用電圧印加と電気泳動分離のための分離用電圧印加のために、高圧電源装置 34、36 が設けられており、それらの高圧電源 34、36 からの電圧はリレー制御システム 38 を経てマイクロチップ 10 に印加される。CPU 32 は試料導入用電圧印加と分離用電圧印加をリレー制御システム 38 を介して切り換え、A/D 変換器 30 からのデータを取り込んでデータ処理を行なうなどの制御装置としての機能を果たしている。CPU 32 は外部のパーソナルコンピュータ 39 に接続され、データの送受信を行なう。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】図 2 の電気泳動装置では、マイクロチップ 10 を X-Y ステージ 12 にセットする前に、マイクロチップ 10 の流路にはシリンジなどで泳動液を充填し、サンプルリザーバ S には数  $\mu$  l の試料をシリンジに入れておかなければならない。その後、各貫通孔のリザーバ 3 に白金電極を挿入する。電気泳動分離された試料を検出するために分離流路上の一点に照射及び集光部の 18 焦点をあわせる必要がある。そのためにレーザビーム又は X-Y ステージ 12 を調整しなければならない。

【0010】そこでは、マイクロチップ 10 にあらかじめ泳動液を満たした後、試料をサンプルリザーバに滴下するセットアップ作業や、マイクロチップ 10 の分離流路にレーザビームの光軸をあわせ、効率よく蛍光を集光するためにマイクロチップ 10 と検出器のアライメントを目視で厳密に行なうマイクロチップのセッティング作業が必要である。そのため、マイクロチップ 10 そのものの大きさは、例えば 20 mm  $\times$  40 mm というように小さく、試薬の消費量が殆どないマイクロ分析法でありながら、顕微鏡 22、光学ベンチ 14、光軸調整機構、汎用的高圧電源 34、36、レーザ発振部 16 及びその電源部 24 など大がかりな装置を必要とする。

【0011】そこで、本発明はそれらの各部を 1 つのケース内に収納してコンパクトにまとめるとともに、マイクロチップを所定の位置にセットすればその後の泳動液

の充填、試料注入、分離流路への試料導入、電気泳動分離及び検出までを自動的に処理できるようにすることを目的とするものである。

【0012】

【課題を解決するための手段】本発明のマイクロチップ電気泳動装置は、互いに交差する分離流路と試料導入流路が形成されているマイクロチップを用いるものであり、電気泳動分離された試料を光学的に検出する検出器と、マイクロチップをトレイに載せて水平面内で移動させる移動機構と、マイクロチップの貫通孔から流路に泳動液を注入する泳動液注入機構と、試料導入流路の端に位置する貫通孔の試料注入孔から試料を注入する試料注入機構と、試料導入流路から分離流路に試料を導入するための試料導入用電圧及び試料の電気泳動分離のための分離用電圧を切り換えて印加する電源装置と、マイクロチップを泳動液注入機構による泳動液注入位置、試料注入機構による試料注入位置、及び検出器による検出位置にそれぞれ位置決めするように移動機構によるマイクロチップの移動の制御、泳動液注入機構及び試料注入機構の動作の制御、並びに電源装置による試料導入用電圧印加及び分離用電圧印加の制御を自動的に行なう制御部としての CPU ボードとを備え、かつ、これらの全てが 1 つのケース内に一体収納されたものである。

【0013】検出器とマイクロチップをトレイに載せて移動させる移動機構とが一体化されているため、マイクロチップの流路の光軸あわせが安定化する。マイクロチップをトレイに設置した後、流路への泳動液の充填、分離流路への試料の導入を自動で行なわせ、マイクロチップを検出位置に自動で移動させ、分析のための電圧印加を行なうことができる。

【0014】

【実施例】図 3 は一実施例の内部構造を示す概略斜視図であり、図 4 はそれらを一体として収納するケースの外観を示す斜視図である。マイクロチップ 10 は図 1 に示されたもので、ガラス製又は樹脂製であり、貫通孔 3 を介して流路に通じる電極パターンがマイクロチップ 10 上に形成されており、その電極パターンが電圧端子にまとめられている。その電極パターンは、例えば蒸着法により形成されている。

【0015】マイクロチップ 10 を固定し、水平面内で移動させる移動機構としてトレイ 40 が設けられており、トレイ 40 は X 方向と Y 方向に移動してマイクロチップ 10 を所定の位置に位置決めすることができる。

【0016】マイクロチップ 10 の位置決めされる位置 A はマイクロチップ 10 のセッティング位置であり、マイクロチップ 10 の電圧端子が装置のコネクタと接続される。位置 B は光学的な検出位置であり、同時に光軸あわせも行なわれる位置である。位置 C は泳動液注入機構と試料注入機構を兼ねるシリンジユニット 42 から泳動液と試料が注入される位置である。マイクロチップ 10

がY方向に移動された位置はリザーバの位置あわせ、シリンジ洗浄、廃液を行なう位置である。図示は省略されているが、トレイ40をX方向に移動させる移動機構と、ガイド44に沿ってY方向に移動させる駆動機構が設けられている。

【0017】検出器として分光光度検出器が用いられている。光源としてD<sub>2</sub>ランプ46が用いられ、そのランプ46からの光はミラーM<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>によりグレーティングGRに導かれて分光され、グレーティングGRからミラーM<sub>3</sub>を経て、シリンドリカルレンズL<sub>1</sub>により、位置Bに位置決めされているマイクロチップ10の分離流路にライン状に集光して照射される。マイクロチップ10を透過した光は反対側に設けられたシリンドリカルレンズL<sub>2</sub>で集光されてシリコンフォトダイオードアレイ48に入射して検出される。シリコンフォトダイオードアレイ48は分離流路の所定の範囲を透過してきた光を同時に受光し、その泳動パターンを検出するものである。シリコンフォトダイオードアレイ48の検出信号は信号処理ボード50に送られて処理される。

【0018】シリンジユニット42はマイクロチップ10の貫通孔から泳動液を注入する泳動液注入機構と、マイクロチップ10の試料導入流路の端に位置する貫通孔の試料注入孔から試料を注入する試料注入機構とを兼ねたものであり、位置Cに位置決めされたマイクロチップ10に対し泳動液の充填と試料の注入を行なう。

【0019】マイクロチップ10の試料導入流路に注入された試料を分離流路に導入するための試料導入用電圧及び試料の電気泳動分離のための分離用電圧を切り換えて印加する電源装置として、高圧電源52と、マイクロチップ10に印加する電圧のオン/オフ及び電流流路を切り換える高圧リレー54が設けられている。

【0020】56はマイクロチップ10を泳動液注入位置、試料注入位置、及び検出位置にそれぞれ位置決めするように移動機構のトレイ40によるマイクロチップ10の移動の制御、シリンジユニット42による泳動液注入動作及び試料注入動作の制御、並びに高圧電源52及び高圧リレー54による電圧印加の制御を行なう制御部としてのCPUボードである。

【0021】これらの各部は図3のように一体的に組み合わせられ、図4のようにケース58内に収納されている。トレイ40はケース58の前面に開けられた窓から突出することができる。60はシリンジユニット42に対し、泳動液や試料を供給したり交換するための扉である。

【0022】次に、この実施例の動作を図5のフローチャートを参照して説明する。マイクロチップ10をトレイ40に設置し、装置の運転をスタートさせると、トレイ40はまずマイクロチップ10に泳動液を充填するために送液位置Cに移動する。泳動液の吐出口を有するロッドがトレイ40の移動方向Xに直交するY方向に移動

し、マイクロチップ10の流路に泳動液を充填する。泳動液の送液は、装置に内蔵されているシリンジユニット42により行なう。

【0023】次に、トレイ40はいったん位置Cから外れた任意の位置（位置CとBの間）へ移動し、マイクロチップ10の流路の両端間に0.5kV程度の電圧が印加されて電流がモニタされ、安定して流れていれば泳動液が正常に充填されていると判断される。もし電流をチェックして電流値が測定されなかったり、不安定である場合は、泳動液が正常に充填されていないと判断されて、マイクロチップ10が位置Cまで戻されて、再度泳動液の充填が行なわれた後、トレイ40が再び位置Cから外れた任意の位置に移動させられて、流路の両端間に0.5kV程度の電圧が印加され、その電流から泳動液が正常に充填されているか否かが判断される。

【0024】泳動液が正常に充填されていると判断された後、マイクロチップ10が再び位置Cまで戻され、試料をサンプルリザーバに注入するためのニードルがY方向に移動して試料の注入を行なう。この場合の試料の送液も装置に内蔵されているシリンジユニット42により行なわれる。

【0025】試料注入後、トレイ40は検出点Bをゆっくり横切る。このとき、検出器の信号がモニタされる。ビームが流路側面にあたる場合、散乱光が生じるため、バックグランドが上昇する。2つのピークの間位置にチップの流路が来るようにトレイ40の駆動機構にフィードバックがかけられて位置決めが行なわれる。

【0026】検出位置Bが決まった時点でサンプルリザーバSとサンプル廃液リザーバWの間に電圧試料導入用電圧が印加され、次いでバッファリザーバBとドレインリザーバDの間に電気泳動分離用電圧の印加に切り換えられて分析が開始される。

【0027】分析が始まると、検出器は分離用流路の泳動パターンを検出していき、その検出パターンは信号処理ボード50でデータ処理される。1つの試料の分析が終了すると、電気泳動分離用電圧の印加が停止される。分析を繰り返す場合は、マイクロチップ10が検出点Bから位置Cへ移動され、流路に残った試料が泳動液で押し流された後、次ぎの試料が注入されて、上記の動作が繰り返される。

【0028】実施例のように、マイクロチップの分離流路がマイクロチップの移動方向と直交した方向になるように、マイクロチップを設置することにより、検出器の光軸がマイクロチップの分離流路を横切ったときの検出器の信号をマイクロチップを移動させる移動機構の駆動機構にフィードバックすることにより、目視によらず、またマイクロチップを移動させる移動機構の位置精度が十分でない場合でも、位置決め分解能を確保しておけば自動でマイクロチップを検出位置に位置決めすることができる。マイクロチップを移動させる移動機構の位置精

度が十分である場合には、検出器の信号によるマイクロチップの位置決めを省略することができる。

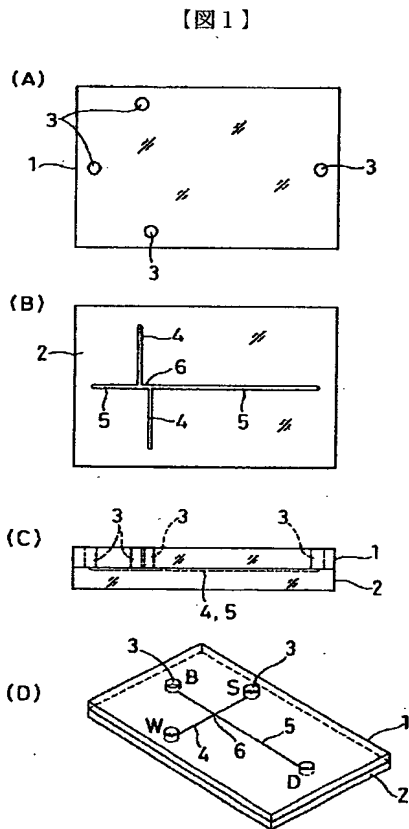
【0029】

【発明の効果】本発明ではマイクロチップ電気泳動分析に必要な各部分が一体化され、分析シーケンスが自動化されているので、トータルの分析時間が短縮され、分析精度が向上する。また、実験室内や実験空間を自由に持ち運びすることも可能にできる。応用分野を固定した専用機にすれば検出波長を固定してしまうなど、装置全体の大きさを左右する検出器のサイズを小さくすることに

結び付く。

【図面の簡単な説明】

【図1】従来の装置でも本発明の装置でも用いるマイクロチップの一例を示す図であり、(A)は貫通穴があけられた一方の基板を示す平面図、(B)は溝が形成された他方の基板を示す平面図、(C)は正面図、(D)は斜視図である。



\*【図2】従来のマイクロチップ電気泳動装置を示す概略斜視図である。

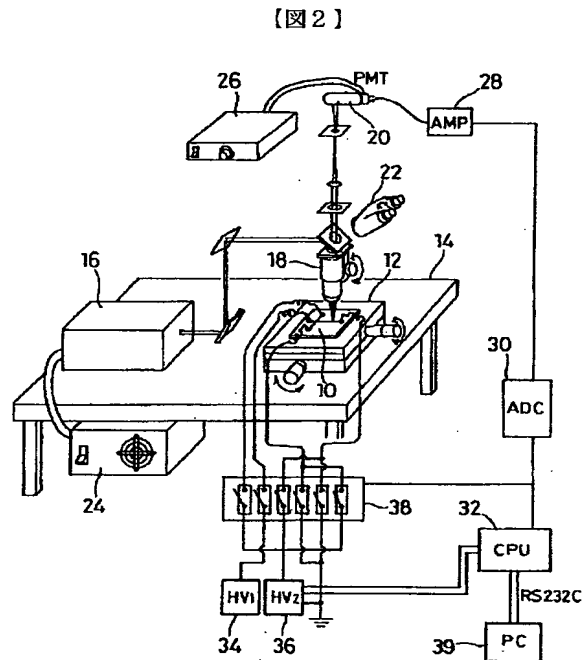
【図3】一実施例の内部構造を示す概略斜視図である。

【図4】同実施例の各部を一体として収納するケースの外観を示す斜視図である。

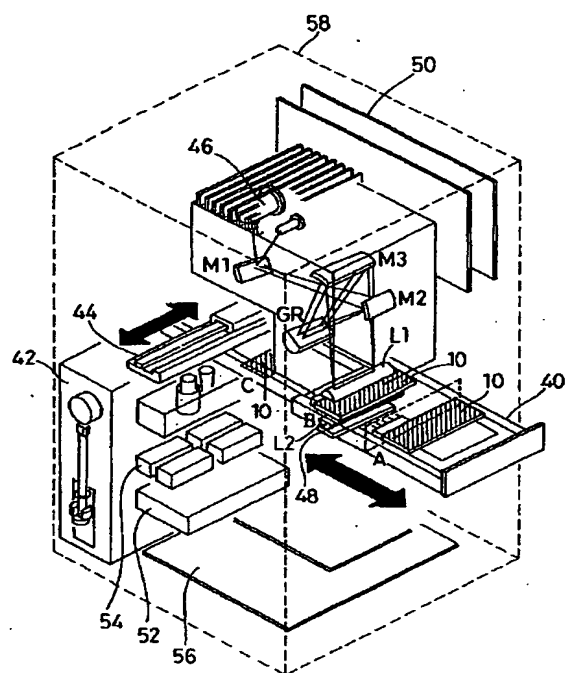
【図5】同実施例の動作を示すフローチャート図である。

【符号の説明】

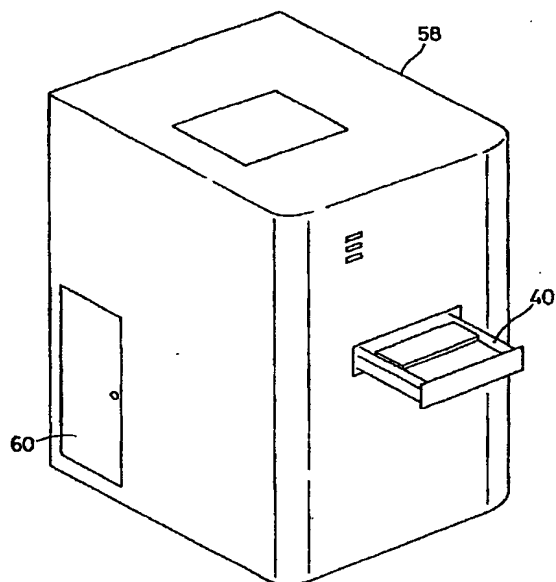
10	マイクロチップ
40	トレイ
42	シリンジユニット
46	D <sub>2</sub> ランプ
48	シリコンフォトダイオードアレイ
52	高圧電源
54	高圧リレー
56	CPUボード
* 58	ケース



【図3】



【図4】





【図5】

